

Artigo de Revisão

Revision Article

Luís Miguel Borrego¹
Sónia Rosa²
Cármén Algueró³
Hélder Trindade⁴
José Rosado Pinto⁵

Células reguladoras

Regulatory cells

Recebido para publicação/received for publication: 06.11.23

Aceite para publicação/accepted for publication: 07.02.20

Resumo

O papel das células T reguladoras na indução e manutenção da tolerância periférica tem recebido uma atenção crescente nos últimos anos. Foram descritos vários subgrupos de células T reguladoras, com base em marcadores de superfície e na produção de citocinas, não havendo no entanto marcadores específicos para nenhum destes subgrupos, pelo que a sua classificação se baseia no seu mecanismo de supressão.

Desconhece-se qual dos subgrupos de células T reguladoras terá papel preponderante na prevenção e controlo das doenças alérgicas, sendo no entanto consensual a sua importância para a homeostasia.

Rev Port Pneumol 2007; XIII (3): 365-376

Palavras-chave: Doenças alérgicas, células T reguladoras, tolerância periférica.

Abstract

The role of regulatory T cells in the induction and maintenance of peripheral tolerance has received growing attention during the last years. Several subsets of regulatory T cells were described based on their surface markers and cytokine production, but nevertheless, there are no specific markers for any subsets and their classification relies on their suppression mechanism.

It is unknown which of the subgroups of regulatory T cells is more important in the prevention and control of allergic diseases, being commonly accepted its importance in homeostasis.

Rev Port Pneumol 2007; XIII (3): 365-376

Key-words: Allergic diseases, peripheral tolerance, regulatory T cells.

¹ Assistente Hospitalar de Imunoalergologia. Serviço de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia. Assistente Convidado do Departamento de Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa.

² Interna do Internato Complementar de Imunoalergologia. Serviço de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia.

³ Assistente Convidada do Departamento de Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa.

⁴ Professor Associado Convidado com Agregação do Departamento de Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa.

⁵ Responsável pelo Serviço de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia. Professor Auxiliar convidado da Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa.

Serviço de Imunoalergologia – Hospital de Dona Estefânia:

Rua Jacinta Marto – 169-045 Lisboa – E-mail: hde.imunoalergo@mail.telepac.pt – Tel: +351213126600 / Fax: +351213126654

Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Nova de Lisboa:

Departamento de Imunologia, Campo dos Mártires da Pátria, n.º 130 1169-056 Lisboa – Tel: 351-218803045/ 218853000 / Fax: 218853480

A tolerância imunológica pode ser definida como a ausência de resposta a determinadas moléculas

Células reguladoras

O sistema imune encontra-se vocacionado para a resposta à agressão, estando programado para controlar a sua resposta no sentido da tolerância para antígenos próprios e ambientais. Este controlo é estabelecido através de diversos mecanismos e células especializadas.

A tolerância imunológica pode ser definida como a ausência de resposta a determinadas moléculas e pode surgir através de dois mecanismos principais: um mecanismo central, que ocorre durante a ontogenia das células T e que leva à eliminação das células T auto-reactivas por deleção clonal no timo; e um mecanismo periférico, que se desenvolve ao longo da vida de um indivíduo e que controla as respostas contra antígenos inócuos ou reconhecidos com baixa afinidade. As células T reguladoras contribuem para a tolerância periférica.¹

Diversas doenças podem surgir pela inexistência deste controlo eficaz, como as doenças autoimunes e doenças alérgicas.

Para compreender a possível importância da relação entre células reguladoras e alergia será importante compreender os mecanismos imunológicos envolvidos nas doenças alérgicas, bem como os possíveis mecanismos de acção das várias células com função reguladora.

Segundo a nomenclatura da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica (EAACI), as reacções de hipersensibilidade podem ser alérgicas (com envolvimento de mecanismos imunológicos) ou não alérgicas (sem envolvimento de mecanismos imunológicos; ex.: intolerância lactose por défice de lactase).

As doenças alérgicas podem envolver a produção de IgE ou não (envolvendo outros anticorpos ou células; como exemplo, a doen-

ça celíaca, em que participam linfócitos e ocorre produção de IgA anti gliadina).

Na resposta alérgica mediada por IgE ocorre libertação dos grânulos do mastócito ou do basófilo, com libertação de mediadores inflamatórios (histamina, prostaglandinas, bradicinina, leucotrienos, etc.), quando um alérgeno contacta com 2 moléculas de IgE que se encontrem à superfície do mastócito. Esta resposta pressupõe o contacto prévio desse alérgeno com o sistema imune, tendo conduzido à produção de IgE específica para este, que se localizará em circulação e nos tecidos, ligada a células efectoras que tenham receptores para a IgE (ex.: mastócito, basófilo) – **sensibilização alérgica**.

Os alérgenos podem ter várias origens (alimentos, medicamentos, ambiente), designando-se por atopia, como a tendência pessoal e/ou familiar para produzir anticorpos IgE dirigidos contra aeroalérgenos comuns.

A activação das células Th₂ tem um papel *major* na inflamação alérgica, uma vez que estes linfócitos estimulam a síntese de IgE pela célula B através da produção de IL-4 e IL-13, bem como o posterior recrutamento eosinofílico através da produção de IL-5, condicionando a hipersusceptibilidade brônquica, no caso da asma.²⁻⁴

Os indivíduos atópicos, ao contrário dos não atópicos, apresentam um padrão citocínico Th₂ com produção de IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, sendo desconhecida a razão pela qual estes indivíduos diferenciam as suas respostas imunitárias neste sentido.⁵⁻⁷

A existência deste padrão nestes indivíduos poderia ser explicitado à luz da teoria higiénica, que postula que a ausência de contacto com microrganismos, bem como a ingesta de antibióticos e protecção ambiental, particularmente no primeiro ano de vida, condiciona o des-

As reacções de hipersensibilidade podem ser alérgicas ou não alérgicas

CÉLULAS REGULADORAS

Luís Miguel Borrego, Sónia Rosa, Cármen Algueró, Hélder Trindade, José Rosado Pinto

vio da diferenciação linfocitária no sentido Th2 em vez do sentido Th1, como seria de esperar no indivíduo saudável.⁵⁻⁷

No entanto, sabe-se actualmente que as células Th1 são pró-inflamatórias e que o desenvolvimento de uma resposta Th1 pode exacerbar a asma e outras doenças alérgicas. Realizaram-se estudos nos quais foram transferidas células Th1 específicas de alérgeno para os pulmões de ratinhos saudáveis, tendo-se verificado um aumento da inflamação das vias aéreas, apesar de não se ter verificado indução directa da hipersusceptibilidade brônquica.⁸ O aumento da prevalência de doenças alérgicas nos últimos 20 anos foi acompanhado de um aumento da prevalência de doenças auto-imunes. Estas observações sugerem que as alterações ambientais que provocaram o aumento da prevalência da asma e de outras doenças alérgicas não podem ser explicadas apenas com base na redução do perfil Th1. Mais recentemente, admite-se que esta resposta imunitária possa surgir pela falência de diferentes mecanismos de supressão da resposta Th2 pelos linfócitos T reguladores.

As células T reguladoras controlam de forma activa a função de outras células, geralmente de modo inibitório. Controlam o desenvolvimento de doenças auto-imunes, a rejeição de transplantes e a asma e outras doenças alérgicas.⁹

Com base em modelos animais, foram propostos dois subgrupos de células T reguladoras, que diferem entre si em termos de especificidade e do mecanismo efector: As células naturais ou profissionais (CD4+CD25+), que se desenvolvem no timo e que dão origem a uma população periférica de células T específicas para auto-antígenos que evitam possíveis reacções auto-imunes; e as células adaptativas ou induzidas (Tr1, Th3 e outras) que se

desenvolvem na sequência da activação de linfócitos T maduros, em condições subóptimas de exposição antigénica.^{9, 10}

Na população linfocitária de células T reguladoras CD4+ estão incluídas as células CD25+, as células T reguladoras do tipo 1 (Tr1) e as células Th3. Outras populações celulares com as células CD8+CD28-, células NK, células CD4-CD8- e células B têm sido implicadas em mecanismos de regulação.^{11,12}

Th3

As células Th3 foram descritas em 1994 por Chen *et al.*, como células T CD4+ que eram induzidas nos gânglios linfáticos mesentéricos após estimulação com antígenos administrados por via oral. Produzem TGF- β , IL-4 e IL-10.¹³

A presença de TGF- β ajuda a induzir a diferenciação de linfócitos T *naive* em células Th3. Apesar de a IL-4 promover o desenvolvimento de células Th3, não é fundamental para este processo. A IL-10 pode aumentar a expansão de células Th3 ao reduzir o desenvolvimento e maturação de células de perfil Th1.¹⁴

Estas células suprimem o desenvolvimento de encefalomielite auto-imune experimental, sugerindo que o TGF- β e a IL-10 produzidos por estas células inibem os efeitos das células T auto-reactivas.⁸

Tal como as células T reguladoras naturais ou profissionais, estas células expressam CTLA-4 na sua superfície. A expressão de Foxp3 e de CD25 também está aumentada após reestimulação das células Th3. Ao contrário das células T reguladoras naturais, o mecanismo supressor destas células depende da produção de TGF- β , que suprime a proliferação de células Th1 e Th2.

As células Th3 também estimulam os plasmócitos a secretar IgA.

As células Th1 são pró-inflamatórias

As células T reguladoras controlam de forma activa a função de outras células, geralmente de modo inibitório

Tr1

Em 1997, Groux *et al.* demonstraram que a activação crónica das células T CD4+, na presença de IL-10 exógena, dava origem a células Tr1, a partir de linfócitos T *naive*.¹⁵ Até à data não foi descrito nenhum marcador de superfície específico, pelo que as células Tr1 são identificadas com base no seu padrão de produção de citocinas. Estas células têm uma baixa capacidade proliferativa e produzem níveis elevados de IL-10, níveis consideráveis de IFN- γ , TGF- β e de IL-5 e baixos níveis de IL-2 e não produzem IL-4.¹⁴ Através da produção de IL-10 e de TGF- β , as células Tr1 suprimem as respostas de células T primárias e secundárias, ou seja, suprimem a proliferação de células T CD4+ em resposta a antígenos.

As células Tr1 específicas para vários tipos de antígenos, incluindo auto-antígenos, podem ser encontradas especialmente na mucosa intestinal, e está demonstrado que evitam a indução experimental de colite em ratos com imunodeficiência combinada grave.⁸ Podem ser induzidas na periferia por células dendríticas tolerogénicas.¹⁶

Fenotipicamente, as células Tr1 são semelhantes às células T reguladoras naturais, uma vez que ambas são anérgicas e expressam CTLA-4. Em contraste com as células T reguladoras naturais, as células Tr1 não expressam níveis elevados de CD25 ou de FoxP3, nem exercem o seu efeito supressivo através de contacto célula a célula.¹⁰

Estas células induzem tolerância respiratória e diminuem a inflamação pulmonar na asma através da produção de IL-10.¹⁷ Foi recentemente demonstrado que uma população de células T reguladoras que produz IL-10 e IFN- γ inibe o desenvolvimento de hipersusceptibilidade brônquica.¹⁸

Natural killer

Foi demonstrado em 2003 por Wilson *et al.* que estas células têm actividade reguladora em doenças auto-imunes, incluindo a diabetes *mellitus*, a encefalomielite auto-imune experimental, a colite induzida por oxazolona e imunidade tumoral.⁸ Após a sua activação, as células NK produzem grandes quantidades de IL-4 e de IFN- γ , que estão relacionados com a sua actividade reguladora. Estudos recentes, que serão abordados posteriormente, sugerem que as células NK podem controlar o desenvolvimento da asma.¹⁹

CD4+CD25+

As células CD4+CD25+ foram descritas em 1995 por Sakaguchi *et al.* como uma pequena fracção (aproximadamente 10%) de células T CD4+ que desempenham um papel importante na prevenção da auto-imunidade, na rejeição de aloenxertos e na manutenção da auto-tolerância.⁸

A população de células CD4CD25+ tem sido investigada em vários estudos, documentando-se a sua presença na maioria dos indivíduos saudáveis e apresentando um papel preponderante na regulação da resposta imunitária. Esta subpopulação de linfócitos T CD4+ expressa constitutivamente a cadeia α do receptor da IL-2 (CD25), um marcador usado para identificar linfócitos T activados, com um papel preponderante na manutenção da tolerância periférica^{20,21}, prevenindo a proliferação de células T auto-reactivas que tenham escapado ao processo de tolerância central por deleção no timo²², bem como pela sua acção moduladora da actividade das células dendríticas²³ e pela sua possível acção citotóxica por intermédio das perforinas nas células CD4 e CD8 autólogas activadas, monócitos CD14+ e células dendríticas²⁴.

Fenotipicamente, as células Tr1 são semelhantes às células T reguladoras naturais

As células NK podem controlar o desenvolvimento da asma

CÉLULAS REGULADORAS

Luís Miguel Borrego, Sónia Rosa, Cármen Algueró, Hélder Trindade, José Rosado Pinto

As células T CD4+CD25+ representam 8 a 12% dos linfócitos T CD4+ nos ratos e 2 a 5% nos humanos.

Estas células são anérgicas e não proliferam mediante activação via TCR, excepto na presença de IL-2 ou de IL-5. De facto, a IL-2 é necessária para desencadear a sua função supressora.¹

Os mecanismos reguladores das células CD4+CD25+ T incluem a supressão por mecanismos de contacto célula a célula²⁵, que envolve o CTLA-4 e o TGF- β 1, levando a uma diminuição da expressão da cadeia α do receptor da IL-2 nas células T alvo⁹ ou a produção e citocinas imunossupressoras, como a IL-10²⁶ e a TGF β ²⁷.

A sinalização via TGF- β nas células CD4+CD25+ é importante para a sua actividade supressora e expansão, e a activação destas células na presença de IL-2 condiciona a produção de IL-10.²⁸

Deste modo, a actividade supressora depende de mecanismos de contacto celular dependente da interacção MHCII/TCR via reconhecimento específico de antígeno e presença de TGF- β e IL-10^{29,30}. Por outro lado, tem sido proposto um eventual papel do receptor para o TNF (GITR) como mecanismos de supressão celular^{30,31}.

Em trabalhos mais recentes foi documentado que a inexistência do factor de transcrição Foxp3 nos ratinhos condicionava a ocorrência de uma doença autoimune mortal, caracterizada pela deficiência das células CD4+CD25+, que não ocorria no caso de se transferir esta população celular para ratinhos Foxp3-, postulando-se a importância *major* deste factor para a sua existência^{32,33}.

No humano, a expressão de Foxp 3 não é específica das células CD4+CD25+, uma vez que a expressão de mRNA de Foxp 3 pode

ser induzida em células mononucleares de sangue periférico que não apresentam esta expressão após isolamento, indicando tratar-se apenas de um marcador de activação celular³⁴.

A presença de TGF- β constitui um elemento-chave para a expressão de Foxp3 e activação dos precursores CD4CD25+ com fenótipo de actividade supressora³⁵.

Expressam FOXP3, GITR, CD25, TNF- α , CCR8, CTLA-4 e TGF- β na sua superfície, que são características comuns dos linfócitos T activados.

A activação das células CD4CD25+ é dependente das células dendríticas, APC que migram do local de infecção para o gânglio linfático, expressando durante o seu processo de maturação receptores de superfície CD80/CD86 que se revelam de importância *major* para a activação celular, devido ao seu papel de co-estimulação, sem os quais as células ficam anérgicas^{36,37}.

Estes receptores têm acções opostas, condicionando a expressão de CD80 o aumento da actividade supressora e a expressão de CD86 o efeito oposto³⁶. O aumento do número de células T reguladoras está associado ao aumento de expressão de Foxp3 e de CD4+CD25+CTLA-4+, encontrando-se o CTLA-4 envolvido na actividade reguladora. Este último regula a função das células CD4+CD25+ T inicialmente durante o desenvolvimento destas células e, posteriormente, na sua fase efectora, onde a sua presença se reveste da maior importância para a actividade supressora³⁸⁻⁴⁰.

A diferenciação da célula TCD4+ em célula reguladora, em detrimento de efectora/memória, pode ainda depender da expressão de outras moléculas, como LAG-3 e neuropilina-1⁴¹.

Os mecanismos reguladores das células CD4+CD25+ T incluem a supressão por mecanismos de contacto célula a célula

**A família dos factores
de activação nuclear
da célula T (NFAT)**

O LAG-3 é uma molécula associada a células CD4 que se liga ao MHC II modulando a actividade supressora das células CD4+CD25+ T, sendo a sua produção ectópica suficiente para conferir actividade reguladora⁴¹.

A neuropilina 1 é um receptor envolvido na maturação axonal, angiogénese e activação da célula T, encontrando-se expresso constitutivamente na superfície das células TCD4+CD25+, independentemente do seu estado de activação, estando a sua presença directamente relacionada com a actividade supressora destas células⁴².

A família dos factores de activação nuclear da célula T (NFAT) compreende 4 membros: NFATc1, NFATc2, NFATc3, NFATc4 e uma proteína distante relacionada NFAT5, estando os tipos 2 e 3 envolvidos no processo de supressão das células TCD4+CD25, originando a presença de síndromas linfoproliferativas, mesmo na presença de células funcionalmente activas nos ratinhos deficientes de NFATc2 e NFATc3⁴³.

**Papel das células T reguladoras
na asma e doenças alérgicas**

As células T reguladoras têm sido estudadas principalmente no contexto de tolerância a auto-antígenos e doenças auto-imunes. No entanto, a tolerância imunológica também é importante em termos da resposta imunitária a antígenos encontrados nos tractos respiratório e gastrointestinal. Estes locais estão continuamente expostos a uma grande variedade de antígenos que induzem tolerância ou hiperreactividade. Esta tolerância a antígenos ambientais poderia ser mediada pelo desenvolvimento de células T reguladoras ou por deleção clonal e anergia das células específicas para o alérgeno⁸.

Em doentes com IPEX (*immune dysregulation Polyendocrinopathy, X linked syndrome*), nos quais

se verifica uma ausência de células reguladoras CD25+ provocada por mutações na FOXP3, desenvolvem eczema grave, aumento dos níveis de IgE, eosinofilia e alergia alimentar, pelo que é provável que as células T reguladoras possam, de alguma forma, controlar o desenvolvimento de asma e de outras doenças alérgicas⁴⁴.

Esta teoria pode ser corroborada por estudos que demonstraram que as células T produtoras de TGF- β podiam reduzir, de uma forma eficaz, a inflamação e hipersusceptibilidade das vias aéreas⁴⁵. A inflamação das vias aéreas em doentes asmáticos também pode ser inibida por linfócitos T produtores de IL-10.

A transferência de células T secretoras de IL-10 inibiu a inflamação das vias aéreas e da hipersusceptibilidade brônquica induzidas pela transferência prévia de células Th2⁴⁶. Estes estudos sugerem que as células T reguladoras produtoras de IL-10 têm um efeito inibidor directo sobre as células Th2.

Foi sugerido por Umetsu *et al.* que a exposição a alérgenos respiratórios poderia levar ao desenvolvimento de tolerância e à formação de células T reguladoras e que as células Th2 surgiriam como formas aberrantes do desenvolvimento das primeiras, provavelmente por produção inadequada de IL-10 ou por aumento da produção de IL-4 e de IL-13, levando ao aparecimento das doenças alérgicas⁴⁷.

CD4+CD25+

A indução de tolerância oral para determinados alimentos está associada ao aumento do número de células CD4+CD25+ T, quer no animal, quer no humano^{48,49}.

Num estudo efectuado em crianças com alergia às proteínas de leite de vaca, ficou demonstrado que ocorria um aumento do número de células CD4+CD25+ T no sangue peri-

CÉLULAS REGULADORAS

Luís Miguel Borrego, Sónia Rosa, Cármen Algueró, Hélder Trindade, José Rosado Pinto

férico das crianças que começaram a tolerar leite na dieta, ao contrário das que permaneciam clinicamente sintomáticas⁴⁹.

Doentes com dermatite atópica têm um aumento significativo do número de células CD4+CD25+ T no sangue periférico, com actividade imunossupressiva normal. No entanto, após estimulação com superantígenos, perdem a sua actividade imunossupressiva, sugerindo um mecanismo explicativo para o aumento da activação celular T em doentes com dermatite atópica⁵⁰.

Ling e colaboradores demonstraram que as células CD4+CD25+ T de dadores não atópicos suprimiam a proliferação e a produção de IL-5 pelas células CD4+CD25+ T, estimuladas com um alérgénio, do próprio indivíduo atópico, não se verificando esta supressão no caso de o dador ser atópico. Esta ausência de supressão verificava-se ainda mais significativamente no caso de o dador ter rinite alérgica, com uma supressão inferior aos não atópicos fora da época polínica e muito inferior a estes durante a mesma⁵¹.

Outro estudo conseguiu comprovar que durante a época polínica da bétula as células CD4+CD25+ T dos indivíduos alérgicos à bétula eram deficitárias na redução da produção de IL-13 e IL-5 mas não na capacidade de reduzir a produção de IFN- γ ⁵².

Estes estudos podem sugerir que a doença alérgica surge pela activação alérgénica das células reguladoras CD4+CD25+ T e das células efectoras Th2, talvez por uma deficiência na função supressora das primeiras ou pela ocorrência de fortes sinais de activação. Deste modo, o tratamento e prevenção das doenças alérgicas pode passar pela activação das células reguladoras e supressão das células Th2.

Neste sentido, foi efectuado um estudo com crianças asmáticas e com grupo-controlo, em

que se comprovou que os níveis de sIL-6R estavam aumentados nas vias aéreas dos primeiros. Mais ainda: o bloqueio de sIL-6R num modelo murino conduziu ao decréscimo de células Th2 no pulmão e a um aumento da expressão local de células Foxp3+CD4+CD25+ T, com capacidade imunossupressora, postulando-se que a utilização terapêutica destas células possa ser uma arma terapêutica para os asmáticos⁵³.

Alguns estudos demonstraram que as células CD4+CD25+ T modulam a resposta Th1 e Th2 e que podem suprimir a maturação Th2^{54,55}.

As células CD4+CD25+ T são heterogéneas e compreendem o tipo Th1-like CD4+CD25+ e o tipo Th2-like CD4+CD25+ T, exprimindo Foxp3, induzindo tolerância por intermédio das células dendríticas CD8a+⁵⁶.

Num estudo recente verificou-se que o número de células CD4+CD25+ T circulantes não diferia entre controlos saudáveis, atópicos não asmáticos e asmáticos, verificando-se no entanto, um aumento destas nos asmáticos durante uma exacerbação clínica.⁵⁷ Haddeland U *et al.* estudaram o sangue do cordão de um grupo de recém-nascidos com história familiar de alergias em comparação com grupo-controlo concluindo que os primeiros apresentavam números inferiores de células CD4CD25 com repercussão funcional pela diminuição das citocinas supressoras⁵⁸.

A exposição a um alérgénio alimentar na presença de LPS conduziria ao aumento dessas células nos indivíduos sem história familiar de alergia, mas não naqueles que tinham história familiar⁵⁸.

Por outro lado, foi demonstrado por alguns estudos que a administração de corticosteróides a doentes asmáticos estimulava funcionalmente as células CD4+CD25+, o que

O tratamento e prevenção das doenças alérgicas pode passar pela activação das células reguladoras e supressão das células Th2

poderia explicar a melhoria clínica, bem como a sua eficácia anti-inflamatória e imunossupressora⁵⁸⁻⁶³.

Esta estimulação caracterizava-se pela expressão de citocinas supressoras, bem como pelo factor de transcrição Foxp 3, correlacionando-se a expressão de Foxp 3 mRNA com a expressão de IL-10 mRNA⁶⁴.

Para além da terapêutica com corticosteróides para o tratamento das doenças alérgicas, têm sido utilizadas outras armas terapêuticas que modulam o sistema imune, como a utilização de imunoterapia específica.

A imunoterapia específica (ITE) consiste na administração de doses progressivamente crescentes de alérgénio com a finalidade de diminuir a sintomatologia resultante de uma exposição natural a esse alérgénio(s).⁶⁵⁻⁶⁷ Esta modalidade terapêutica tem demonstrado a sua eficácia na alergia a veneno de himenópteros, rinite alérgica e asma brônquica,⁶⁸⁻⁷⁰ estando demonstrado que pode alterar a história natural da doença alérgica, prevenindo o desenvolvimento de asma em doentes com rinite alérgica^{71,72} e, ainda, sensibilizações a novos alérgénios⁷³.

Estes estudos têm demonstrado alterações na reactividade da célula T após imunoterapia específica, com redução das citocinas Th2 e aumento da expressão de citocinas T *helper* (Th) 1: IL-2, IFN- γ e IL-12⁶⁵⁻⁷³.

Em 2003, Jutel *et al* demonstraram que o enriquecimento de uma cultura celular com células CD4+CD25+, purificadas após ITE com extracto de ácaro do pó doméstico, por via subcutânea e clinicamente eficaz, suprimia a proliferação celular, e que este efeito é específico do alérgénio⁷⁴.

Demonstraram ainda que as células T específicas que expressam interleucina 10 (IL-10) e TGF- β , citocinas reguladoras da resposta

inflamatória e inibidoras da proliferação, estão maioritariamente contidas na fracção de células T CD4+CD25+. O efeito supressor foi neutralizado com a adição de anticorpo anti-receptor de IL-10 (anti-IL-10R) e sTGF- β R.

NK

As células NK podem afectar a diferenciação das células Th2. Estas células produzem grandes quantidades de citocinas quando são activadas por antígenos glicolípidos do próprio.

As NK estão presentes no pulmão e produzem níveis elevados de IL-4 e de IL-13, que regulam o aparecimento de hiperreactividade brônquica¹⁹.

Assim, na ausência de células NK, como acontece em ratinhos CD1d-/-, a exposição a vários alérgénios não desencadeia HRB⁷⁵. O mecanismo pelo qual as NK induzem a HRB não está ainda esclarecido.

São importantes para a indução de HRB no rato mas desconhece-se a sua importância na asma em humanos.

Tr1, Th3

Actualmente desconhece-se, de entre as várias células T reguladoras, quais são as mais importantes no controlo das doenças alérgicas. É possível que as células Th3 estejam envolvidas na regulação de doenças gastrintestinais e que as células Tr1 se encontrem mais ligadas às doenças respiratórias, uma vez que as células dendríticas do tracto respiratório produzem IL-10, necessária para o desenvolvimento das células Tr1 e que as células dendríticas do tracto gastrintestinal produzem IL-10 e TGF- β necessários ao desenvolvimento das células Th3.⁷⁶

As células NK podem afectar a diferenciação das células Th2

É possível que as células Tr1 se encontrem mais ligadas às doenças respiratórias

CÉLULAS REGULADORAS

Luís Miguel Borrego, Sónia Rosa, Cármen Algueró, Hélder Trindade, José Rosado Pinto

Conclusão

O conhecimento dos mecanismos protectores do aparecimento da asma e de outras doenças alérgicas ainda é limitado. É pouco provável que os mecanismos protectores da asma e de outras alergias estejam relacionados com um perfil Th1, dado que esta resposta tem propriedades pró-inflamatórias.

Os diferentes tipos de células T reguladoras (Th3, Tr1, CD4+CD25+) poderão estar envolvidos na supressão do desenvolvimento da asma e de outras doenças alérgicas, dando origem a respostas anti-inflamatórias.

Bibliografia

1. Bacchetta R, Gregori S, Roncarolo MG. CD4+ regulatory T cells: Mechanisms of induction and effector function. *Autoimmun Rev* 2005; 4:491-6.
2. Kay AB. Allergy and allergic diseases. *N Engl J Med* 2001;344:30-7.
3. El Biaz M, Boniface S, Koscher V, Mameessier E, Dupuy P, Milhe F *et al.* T cell activation, from atopy to asthma: more a paradox than a paradigm. *Allergy* 2003;58:844-53.
4. Mazzarella G, Bianco A, Catena E, De Palma R, Abbate GF. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma. *Allergy* 2000;55(Suppl. 61):6-9.
5. Matricardi PM, Bouygue GR, Tripodi S. Inner-city asthma and the hygiene hypothesis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;89(6 Suppl 1):69-74.
6. Kalliomaki M, Isolauri E. Pandemic of atopic diseases – a lack of microbial exposure in early infancy? *Curr Drug Targets Infect Disord* 2002;2(3):193-9.
7. Matricardi PM. The role of early infections, hygiene and intestinal microflora. *Pediatr Pulmonol Suppl* 2004;26:211-2.
8. Akbari O, Stock P, DeKruyff RH, Umetsu D. Role of regulatory T cells in allergy and asthma. *Curr Opin Immunol* 2003; 15:627-33.
9. Maggi E, Cosmi L, Liotta F, Romagnani P, Romagnani S, Annunziato F. Thymic regulatory T cell. *Autoimmun Rev* 2005; 4:579-86.
10. Hauben E, Roncarolo MG. Human CD4+ regulatory T cells and activation-induced tolerance. *Microbes Infect* 2005; 7:1023-32.
11. Baecher-Allan C, Hafler DA. Suppressor T Cells in Human Diseases. *J Exp Med* 2004;200(3):273-276.
12. Danke NA, Koelle DM, Yee C, Beheray S, Kwok WW. Autoreactive T cells in healthy individuals. *J Immunol* 2004;172:5967-72.
13. Chen Y, Kuchroo VK, Inobe J, Hafler DA, Weiner HL. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science* 1994;265(5176):1237-40.
14. Lan RY, Ansari AA, Lian ZX, Gershwin ME. Regulatory T cells: Development, function and role in autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2005;4:351-63.
15. Groux H, O'Garra A, Bigler M, Rouleau M, Antonenko S, de Vries JE, Roncarolo MG. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997;389(6652):737-42.
16. Steinbrink K, Graulich E, Kubsch S, Knop J, Enk AH. CD4(+) and CD8(+) anergic T cells induced by interleukin-10-treated human dendritic cells display antigen-specific suppressor activity. *Blood* 2002;99(7):2468-76.
17. Akbari *et al.* Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2002; 8:1024-32.
18. Stock P, Akbari O, Berry G, Freeman GJ, Dekruyff RH, Umetsu DT. Induction of T helper type 1-like regulatory cells that express Foxp3 and protect against airway hyperreactivity. *Nat Immunol* 2004; 5:149-56.
19. Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, Kuniyasu Y, Shimizu J, Otsuka F *et al.* Thymus and autoimmunity: production of CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol* 1999;162:5317-26.
20. Akbari O, Stock P, Meyer E, Kronenberg M, Sidobre S, Nakayama T, Taniguchi M, Grusby MJ, DeKruyff RH, Umetsu DT. Essential role of NKT cells producing IL-4 and IL-13 in the development of allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2003;9(5):582-8. Epub 2003 Mar 31.
21. Kuniyasu Y, Takahashi T, Itoh M, Shimizu J, Toda G, Sakaguchi S. Naturally anergic and suppressive CD25+CD4+ T cells as a functionally and phenotypically distinct immunoregulatory T cell subpopulation. *Int Immunol* 2000;12:1145-55.

22. Suri-Payer E, Amar AZ, Thornton AM, Shevach EM. CD4+CD25+ T cells inhibit both the induction and effector function of autoreactive T cells and represent a unique lineage of immunoregulatory cells. *J Immunol* 1998;160:1212-1218. 992
23. Misra N, Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Cuttingedge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigenpresenting function of dendritic cells. *J Immunol* 2004;172:4676-80.
24. Grossman WJ, Verbsky JW, Barchet W, Colonna M, Atkinson JP, Ley TJ. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity* 2004;21:589-601.
25. Thornton AM, Shevach EM. Suppressor effector function of CD25+CD4+ immunoregulatory T cells is antigen nonspecific. *J Immunol* 2000;164:183-90.
26. Asseman C, Mauze S, Leach MW, Coffman RL, Powrie F. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med* 1999;190: 995-1004.
27. Powrie F, Carlino J, Leach MW, Mauze S, Coffman RL. A critical role for transforming growth factor β but not interleukin 4 in the suppression of T helper type 1 mediated colitis by CD45RBlow CD4+ T cells. *J Exp Med* 1996;183:2669-74.
28. de la Rosa M, Rutz S, Dorninger H, Scheffold A. Interleukin-2 is essential for CD4+CD25+ regulatory T cell function. *Eur J Immunol* 2004;34:2480-88.
29. Zheng SG, Wang JH, Gray JD, Soucier H, Horwitz DA. Natural and induced CD4+CD25+ cells educate CD4+CD25+ cells to develop suppressive activity: the role of IL-2, TGF- β , and IL-10. *J Immunol* 2004;172:5213-21.
30. Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, Ishida Y, Sakaguchi S. Stimulation of CD25+CD4+ regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol* 2002;3:135-42.
31. McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, Young DA, Shevach EM, Collins M *et al.* CD25+CD4+ immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoidinduced TNF receptor. *Immunity* 2002;16:311-23.
32. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD25+CD4+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003;4: 330-6.
33. Khattri R, Cox T, Yasayko S-A, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD25+CD4+ T regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003;4:337-42.
34. Morgan ME, van Bilsen JH, Bakker AM, Heemskerk B, Schilham MW, Hartgers FC *et al.* Expression of FOXP3 mRNA is not confined to CD4+CD25+ T regulatory cells in humans. *Hum Immunol* 2005;66:13-20.
35. Fu S, Zhang N, Yopp AC, Chen D, Mão M, Chen D *et al.* TGF- β induces Foxp3+ T regulatory cells from CD4+CD25+ precursors. *Am J Transplant* 2004;4:1614-27.
36. Zheng Y, Manzotti CN, Liu M, Burke F, Mead KI, Sansom DM. CD86 and CD80 differentially modulate the suppressive function of human regulatory T cells. *J Immunol* 2004;172:2778-84.
37. Liang S, Alard P, Zhao Y, Parnell S, Clark SL, Kosiewicz MM. Conversion of CD4+CD25+ cells into CD4+CD25+ regulatory T cells *in vivo* requires B7 costimulation, but not the thymus. *J Exp Med* 2005;201:127-37.
38. Tang Q, Boden EK, Henriksen KJ, Bour-Jordan H, Bi M, Bluestone JA. Distinct roles of CTLA-4 and TGF- β in CD4+CD25+ regulatory T cell function. *Eur J Immunol* 2004;34:2996-3005.
39. Paust S, Lu L, McCarty N, Cantor H. Engagement of B7 on effector T cells by regulatory T cells prevents autoimmune disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:10398-403.
40. Zheng G, Wang B, Chen A. The 4-1BB costimulation augments the proliferation of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2004;173:2428-34.
41. Bruder D, Probst-Kepper M, Westendorf AM, Geffers R, Beissert S, Loser K *et al.* Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells. *Eur J Immunol* 2004;34:623-30.
42. Huang CT, Workman CJ, Flies D, Pan X, Marson AL, Zhou G *et al.* Role of LAG-3 in regulatory T cells. *Immunity* 2004;21:503-13.
43. Bopp T, Palmethofer A, Serfling E, Heib V, Schmitt S, Richter C *et al.* NFATc2 and NFATc3 transcription factors play a crucial role in suppression of CD4+ T lymphocytes by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Exp Med* 2005;201:181-7.
44. Gambineri E, Torgerson T, Ochs H. Immune dysregulation . polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of Foxp3, a critical regulator of T cell homeostasis. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15:430-5.
45. Hansen G, McIntire JJ, Yeung VP, Berry G, Thorbecke GJ, Chen L, DeKruyff RH, Umetsu DT. CD4(+) T helper cells engineered to produce latent TGF- β 1 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. *J Clin Invest* 2000; 105:61-70.

CÉLULAS REGULADORAS

Luis Miguel Borrego, Sónia Rosa, Carmen Algueró, Hélder Trindade, José Rosado Pinto

46. Oh JW, Seroogy CM, Meyer EH, Akbari O, Berry G, Fathman CG, DeKruyff RH, Umetsu DT. CD4 T-helper cells engineered to produce IL-10 prevent allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110:460-8.
47. Umetsu DT, Akbari O, Dekruyff RH. Regulatory T cells control the development of allergic diseases and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:480-7.
48. Zhang X, Izikson L, Liu L, Weiner HL. Activation of CD25+CD4+ regulatory T cells by oral antigen administration. *J Immunol* 2001;147:4245-53.
49. Karlsson MR, Rugtveit J, Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD4+CD25+ regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J Exp Med* 2004; 199:1679-88.
50. Ou LS, Goleva E, Hall C, Leung DY. T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:756-63.
51. Ling EM, Smith T, Nguyen XD, Pridgeon C, Dallman M, Arbery J *et al.* Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004;363:608-15.
52. Grindebacke H, Wing K, Andersson AC, Suri-Payer E, Rak S, Rudin A. Defective suppression of Th2 cytokines by CD4+CD25+ regulatory T cells in birch allergies during birch pollen season. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1364-72.
53. Doganci A *et al.* The IL-6R alpha chain controls lung CD4+CD25+ Treg development and function during allergic airway inflammation *in vivo*. *J Clin Invest* 2005; 115(2):313-25.
54. Suto A, Nakajima H, Kagami SI, Suzuki K, Saito Y, Iwamoto I. Role of CD4+CD25+ regulatory T cells in T helper 2 cell-mediated allergic inflammation in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:680-7.
55. Jaffar Z, Sivakuru T, Roberts K. CD4+CD25+ T cells regulate airway eosinophilic inflammation by modulating the Th2 cell phenotype. *J Immunol* 2004; 172:3842-9.
56. Stock P, Akbari O, Berry G, Freeman GJ, Dekruyff RH, Umetsu DT. Induction of T helper type 1-like regulatory cells that express Foxp3 and protect against airway hyperreactivity. *Nat Immunol* 2004;5:1149-56.
57. Shi HZ, Li S, Xie ZF, Qin XJ, Qin X, Zhong XN. Regulatory CD4+CD25+ T lymphocytes in peripheral blood from patients with atopic asthma. *Clin Immunol* 2004;113:172-8.
58. Unni Haddeland *et al.* Putative regulatory T cells are impaired in cord blood from neonates with hereditary allergy risk. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16(2):104-12.
59. Barnes PJ. Molecular mechanisms of glucocorticoid action in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:159-68.
60. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR *et al.* Effect of an inhaled glucocorticoid of airway inflammation and symptoms in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:669-74.
61. Meijer RJ, Kerstjens HA, Arends LR, Kauffman HF, Koeter GH, Postma DS. Effects of inhaled fluticasone and oral prednisolone on clinical and inflammatory parameters in patients with asthma. *Thorax* 1999;54:894-9.
62. Chen X, Murakami T, Oppenheim JJ, Howard OMZ. Differential response of murine CD4+CD25+ and CD4+CD25) T cells to dexamethasone-induced cell death. *Eur J Immunol* 2004;34:859-69.
63. Nguyen XD, Robinson DS. Fluticasone propionate increases CD4+CD25+ T regulatory cell suppression of allergenstimulated CD4+CD25) T cells by an IL-10 dependent mechanism. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:296-301.
64. Karagiannidis C, Akdis M, Holopainen P, Woolley NJ, Hense G, Ruckert B *et al.* Glucocorticoids upregulate FOXP3 expression and regulatory T cells in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1425-33.
65. Till SJ, Durham SR. Immunological responses to allergen immunotherapy. *Clin Allergy Immunol* 2004;18:85-104.
66. Till SJ, Francis JN, Nouri-Aria K, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1025-34.
67. Akdis CA, Blaser K, Akdis M. Genes of tolerance. *Allergy* 2004;59:897-913.
68. Varney VA, Gaga M, Frew AJ, Aber VR, Kay AB, Durham SR. Usefulness of immunotherapy in patients with severe summer hay fever uncontrolled by antiallergic drugs. *BMJ* 1991;302:265-99.
69. Bousquet J, Calvayrac P, Guerin B, Hejjaoui A, Dhivert H, Hewitt B *et al.* Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. I. *In vivo* and *in vitro* parameters after a short course of treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:734-44.
70. Varney VA, Edwards J, Tabbah K, Brewster H, Mavroleon G, Frew AJ. Clinical efficacy of specific immunotherapy to cat dander: a double-blind placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 1997;27:860-867. 1960;13:27-33.
71. Bousquet J, Lockett R, Malling HJ, editors. World Health Organization position paper: allergen immuno-

therapy – therapeutical vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998; 53 (Suppl 57).

72. Möller C, Dreborg S, Ferdousi HA, *et al.* Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy and Clin Immunol* 2002; 109: 251-6.

73. Des Roches A, Paradis L, Menardo JL *et al.* Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitization in children. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:450-3.

74. Jutel M, Akdis M, Budak F *et al.* IL-10 and TGF- β cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *European Journal of Immunology* 2003; 33: 1205-14.

75. Akbari O *et al.* Essential role of NKT cells producing IL-4 and IL-13 in the development of airway allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2003; 9:582-8.

76. Akbari O, DeKruyff RH, Umetsu DT. Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to the antigen. *Nat Immunol* 2001; 2:725-31.